

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication :  
(A n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction).

**2 400 901**

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

**N° 77 26119**

(54) Préparations pharmaceutiques de Lactobacillus, utiles notamment comme antiinfectieux.

(51) Classification internationale (Int. Cl.<sup>2</sup>). A 61 K 35/74.

(33) (32) (31) (22) Date de dépôt ..... 26 août 1977, à 16 h.  
Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du  
public de la demande ..... B.O.P.I. — «Listes» n. 12 du 23-3-1979.

(71) Déposant : SEIKEN KAI FOUNDATIONAL JURIDICAL PERSON, résidant au Japon.

(72) Invention de :

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Beau de Loménie, 55, rue d'Amsterdam, 75008 Paris.

La présente invention concerne une préparation pharmaceutique qui comprend une ou plusieurs souches de Lactobacillus comme ingrédient actif. Plus particulièrement, l'invention concerne une préparation de Lactobacillus utile principalement pour le traitement des infections ou 5 des maladies infectieuses, c'est-à-dire de maladies qui sont difficiles à guérir dans l'état actuel de la science médicale.

L'intrusion des bactéries dans les organismes et leur prolifération sont désignées sous le nom "d'infections". Lorsque les bactéries ont commencé à proliférer dans l'organisme ou que ce dernier commence à 10 présenter des réactions (désignées sous le nom de "maladies infectieuses"), on peut observer divers symptômes, tels que fièvre, inflammation et gonflement. L'état du malade peut être amélioré si l'on utilise convenablement à ce stade des médicaments, tels que des antibiotiques. Cependant, 15 le traitement médical se révèle fréquemment infructueux, car l'absence d'utilisation d'antibiotiques en temps utile, leur utilisation inadéquate, l'arrêt de leur utilisation, la boisson ou d'autres conduites inattendues et divers autres phénomènes (par exemple, le fait que l'antibiotique ne parvienne pas suffisamment à la partie atteinte) peuvent empêcher l'extermination ou l'élimination des bactéries des organismes infectés. Et, dans 20 certains cas, la maladie infectieuse peut devenir chronique ou même grave au point qu'il sera difficile de la guérir dans l'état actuel de la science médicale. La préparation de Lactobacillus selon l'invention (ci-après dénommée "préparation selon l'invention") est spécialement efficace pour le 25 traitement de ces maladies.

On décrit ci-après l'utilisation de la préparation selon l'invention dans le traitement de maladies caractéristiques, telles qu'inflammation nasale, gastrites ou entérites, blennorrhée alysolaire, déchirure périnéale ou de l'appareil génital et hémorroïdes, qui peuvent parfois être classées dans les maladies inguérissables.

30 (1) Inflammation nasale :

On observe fréquemment que des patients qui ont pris froid et qui ont le nez qui coule sont pour certaines raisons infectés par des bactéries pathogènes. Ces bactéries prolifèrent à profusion dans le sinus nasal et commencent enfin à produire des toxines. La réaction des 35 organismes aux toxines provoque une inflammation qui, bien qu'elle dépende du degré et du type d'infection, entraîne l'exsudation de diverses substances.

Lorsque la situation devient sérieuse, il peut devenir extrêmement difficile de traiter la maladie parce que les humeurs nasales deviennent plus muqueuses et les antibiotiques ne peuvent pas pénétrer ce mucus ou pus. En outre, même l'utilisation desdits antibiotiques en combinaison avec des enzymes anti-inflammatoires n'aurait pas d'effets favorables pour éviter l'aggravation de la maladie.

Les faits mentionnés ci-dessus indiquent que, dans de nombreux cas, la maladie ne peut pas être guérie par l'utilisation d'antibiotiques seuls. En outre, des bactéries résistantes aux médicaments apparaissent dans ces situations et il se produit toujours des réactions secondaires dans lesquelles la maladie devient plus chronique et grave. L'excision est l'un des traitements médicaux restant possible dans de telles situations. L'utilisation convenable de la préparation selon l'invention (on préfère dans ce cas une préparation obtenue à partir d'une souche productrice d'antibiotiques) est efficace, indépendamment du fait que le traitement soit effectué par voie chirurgicale ou non. Lorsque l'on applique une grande quantité de la préparation selon l'invention sur la portion enflammée et à plusieurs reprises selon le besoin, la substitution bactérienne a lieu progressivement et, selon l'état du patient, les bactéries pathogènes semblent commencer à perdre leur influence dès le 2e jour ou en environ 15 jours au plus tard. En outre, on a vérifié que l'état du malade s'améliore progressivement, ce qui s'accompagne de la diminution ou de la disparition de l'inflammation et du gonflement, la dissolution ou diminution du pus et la purification du foyer de la maladie. Dans ce cas, cependant, lorsque des composés doués d'activité bactéricide contre *Lactobacillus* (par exemple, raifort, poivre rouge, curry, etc.) et des médicaments tels que des antibiotiques pénètrent dans le sinus nasal, il arrive parfois que la maladie s'aggrave. Ceci est principalement dû au fait que ces composés bactéricides empêchent la prolifération de *Lactobacillus*. Dans de tels cas, il est donc spécialement important d'utiliser une préparation selon l'invention qui a été préalablement rendue résistante aux composés mentionnés ci-dessus.

Récemment, on a utilisé de préférence la combinaison d'antibiotiques et d'enzymes anti-inflammatoires pour le traitement de la sinusite, etc. Mais, même ces techniques très nouvelles ne peuvent pas être suffisamment efficaces pour le traitement de patients qui présentent une suppuration importante et le traitement chirurgical peut habituellement être nécessaire. Cependant, la demanderesse a déjà observé de nombreux cas

où même cette maladie grave avait pu être guérie sans intervention chirurgicale par l'utilisation de la préparation selon l'invention.

(2) Appendicite :

L'infection par des bactéries pathogènes est l'une des causes importantes de cette maladie. En cas d'appendicite, les bactéries pathogènes qui provoquent l'inflammation passent progressivement dans les organes intestinaux supérieur et inférieur et y restent ordinairement, même après l'opération d'enlèvement de l'appendice. Dans cette maladie infectieuse, les bactéries pathogènes réparties dans le voisinage y survivent indéfiniment après l'opération. Il arrive aussi que des patients soient infectés par des bactéries dans les hôpitaux. Dans un certain sens, les infections ci-dessus mentionnées sont inévitables et bien qu'une grande quantité d'antibiotiques ait été généralement utilisée pour leur traitement, l'utilisation desdits antibiotiques ne peut pas encore empêcher suffisamment la prolifération des bactéries pathogènes. Lorsque l'on utilise dans les situations ci-dessus mentionnées les souches de *Lactobacillus* selon l'invention, elles peuvent entraîner un rétablissement rapide du malade parce que lesdites souches, comme dans le cas des maladies inflammatoires, peuvent digérer ou dénaturer les bactéries pathogènes (restées dans l'organisme après l'opération) et la sécrétion ou l'exsudat des cellules ou du serum (produits par la réaction de biophylaxie). De toute manière, comme les antibiotiques peuvent être fréquemment utilisés dans ces situations, les souches de *Lactobacillus* à utiliser doivent être des souches résistantes aux agents bactéricides.

(3) Gastrite et entérite :

Bien que, même actuellement, il ne soit pas rare que des patients ayant une mauvaise résistance à ces maladies (par exemple, les enfants en bas âge et les personnes âgées) meurent de marasme, on peut normalement améliorer progressivement en quelques jours la gastrite et l'entérite induites par des bactéries pathogènes, ainsi que les maladies inflammatoires provoquées par des bactéries, telles qu'*enteritis vibrio*, la bactérie de la dysenterie, ou *salmonella*, par l'utilisation appropriée d'antibiotiques. Cependant, certaines de ces bactéries pathogènes peuvent être résistantes aux antibiotiques utilisés. Dans ce dernier cas, on ne peut pas guérir la maladie par l'utilisation d'antibiotiques seuls, mais elle peut devenir plus chronique ou provoquer fréquemment des maladies secon-

daires. Il est donc de la plus haute importance, dans le domaine médical, de guérir les maladies avant qu'elles deviennent chroniques. A cet effet, il est souhaitable d'administrer aux patients une grande quantité de la préparation selon l'invention, si nécessaire en combinaison avec des antibiotiques. En 5 outre, même dans les cas où l'on peut obtenir une amélioration en quelques jours par administration d'un médicament approprié, l'utilisation de la préparation selon l'invention est recommandée parce qu'elle peut entraîner un rétablissement plus rapide et, en même temps, en éliminer toutes les causes.

10 (4) Expectoration :

Le crachat est, comme le pus, formé par la réaction pathologique de l'organisme vivant. En outre, le crachat lui-même stimule dans l'organisme une nouvelle formation de crachat qui se poursuit indéfiniment lorsque l'état du malade empire. Ce phénomène est fondamentalement le même 15 que dans le cas de la sinusite. Même, dans ce cas, les souches de Lactobacillus selon l'invention peuvent purifier le crachat parce que, comme on l'a observé dans l'intestin, elles digèrent, décomposent ou dénaturent les substances nutritives contenues dans le crachat.

(5) Gingivite :

20 Lorsque l'on traite la portion inflammatoire de l'organisme, par exemple avec des antibiotiques et des enzymes anti-inflammatoires, ce traitement aboutit fréquemment à un succès médiocre et des bactéries restent encore vivantes sans être chassées par les antibiotiques, les enzymes anti-inflammatoires et la réaction de biophylaxie de l'organisme. 25 Ce phénomène est observé très fréquemment, par exemple, dans l'abcès alvéolaire. Outre les effets thérapeutiques insuffisants des médicaments, ceci est dû principalement au fait que les tissus de la gencive ne sont pas encore complètement rétablis au moment où la quantité de cellules bactériennes pathogènes a diminué de manière significative.

30 Dans ces cas, les bactéries et les bactéries pathogènes qui restent dans la cavité orale, l'intervalle entre les dents et les gencives, récupèrent à nouveau leur vitalité et le patient revient à son mauvais état initial. Lorsque la quantité de bactéries pathogènes a diminué dans ce type de maladie, il est donc important d'administrer la préparation selon l'invention. Par l'administration de la préparation selon

l'invention, le rapport quantitatif des bactéries pathogènes restantes aux souches de Lactobacillus selon l'invention est inversé et, simultanément, l'état ou la couleur des gencives antérieurement enflammées et gonflées peuvent être considérablement améliorés.

- 5 En effet, lorsque la portion localement infectée doit être traitée d'urgence, on peut utiliser des antibiotiques pour tuer les bactéries pathogènes et non pathogènes. Et, ensuite, on peut soigner l'inflammation provoquée par la réaction de biophylaxie, de préférence en utilisant la préparation selon l'invention ayant une activité puissante de désinfection.

10 (6) Hémorroïdes :

Bien que des interprétations assez diverses quant à leurs causes aient été proposées dans le passé, des vues relativement uniformisées sont avancées ces derniers temps.

- La première de ces causes est en relation étroite avec  
15 l'infection par les bactéries pathogènes, c'est-à-dire les types et la quantité des dérivés pathogènes; la seconde cause a rapport avec les bactéries intestinales, c'est-à-dire les infections intestinales; la troisième cause a rapport avec la structure des organes intestinaux ou de l'anus; la quatrième cause a rapport avec le degré et la fréquence d'irritation dans la zone  
20 atteinte, c'est-à-dire constipation et solidité des excréments; la cinquième cause a rapport avec la réaction de l'organisme (c'est-à-dire les conditions de la blessure) et la faculté de guérison dans cette zone (c'est-à-dire la constitution physique); et la sixième cause a rapport avec le degré et l'étendue de la congestion. Si l'on reprend les causes ci-dessus (c'est-à-  
25 dire la blessure, la déchirure et l'infection bactérienne qui sont propres aux hémorroïdes), il n'est pas rare que des patients soient atteints, par suite de la seule déchirure, par des hémorroïdes sérieuses affectant leur vie quotidienne. Autrement dit, on peut considérer les hémorroïdes comme l'inflammation de l'anus et des régions avoisinantes qui sont provoquées  
30 principalement par l'infection bactérienne ou par leur combinaison avec diverses autres causes. En outre, les conditions et le degré de la maladie peuvent varier selon les bactéries, les interrelations avec les bactéries intestinales, la réactivité de l'organisme, le degré d'irritation ou l'emplacement de la zone affectée. Il se peut donc qu'une discussion étendue  
35 de la maladie ne soit pas toujours appropriée au même niveau. A ce sujet, cependant, il est indéniable que, dans tous les cas, l'infection bactérienne

joue un rôle important dans cette maladie. Dans ce sens donc, on doit reconnaître que divers symptômes des hémorroïdes indiquent divers aspects de l'infection bactérienne. Sur la base de ces considérations, les hémorroïdes doivent être considérées, comme la laryngite ou diverses inflammations provoquées par la déchirure périnéale à l'accouchement, comme le modèle caractéristique le plus compliqué et inclassable d'inflammation qui est principalement due à une infection bactérienne.

5 Comme indiqué ci-dessus, les hémorroïdes sont l'une des maladies les plus inguérissables et, dans le cas de cette maladie, la difficulté d'établir les types de bactéries pathogènes, leur résistance aux médicaments, le degré d'osmose locale des bactéries pathogènes et leur caractère infectieux rendent très difficile même le choix des médicaments.

10 En outre, le fait qu'un médicament soit réellement efficace pour les bactéries intestinales dans l'organisme doit être décidé indépendamment de l'activité bactéricide du médicament, car il est inévitable pour les patients d'être infectés par une grande quantité de diverses bactéries intestinales. Ces deux points rendent plus difficile le choix 15 de médicaments appropriés.

En outre, bien que de nombreuses propositions ont été 20 faites pour le traitement de cette maladie, d'après les expériences thérapeutiques, les humains seront sans aucun doute affligés par cette maladie pendant encore longtemps, parce que les hémorroïdes de divers types ont des causes compliquées. A ce sujet, cependant, l'utilisation de la préparation selon l'invention a un avenir prometteur et fait faire un pas en avant 25 à la thérapie des hémorroïdes.

En résumé, tout d'abord, les souches particulières de Lactobacillus qui sont utilisées selon l'invention ont la faculté caractéristique de contrôler ou empêcher la croissance d'autres micro-organismes vivants. Ce fait a été trouvé dans l'étude de la désodorisation des excréments. Cette faculté sert également à empêcher la croissance, éliminer ou provoquer la substitution bactérienne des bactéries pathogènes qui forment le foyer de la maladie dans la zone atteinte. En outre, cette faculté est efficace contre les bactéries intestinales également. En outre, comme les souches de Lactobacillus selon l'invention tuent les bactéries trouvées dans la région de l'inflammation et son voisinage ou exercent un effet de protection contre les bactéries intestinales, et comme l'équilibre 30 entre Lactobacillus et les bactéries intestinales est modifié en faveur du 35

5 premier en entraînant une diminution des bactéries responsables des putréfactions dans l'intestin, la faculté ci-dessus mentionnée des souches de Lactobacillus peut alléger le fardeau que les organismes vivants doivent supporter à des fins de phylaxie. En outre, la puissante action de purification de la préparation selon l'invention a déjà été prouvée par les expériences concernant la désodorisation de matières infectées.

10 En outre, les souches utilisées pour obtenir la préparation selon l'invention comprennent celles fortement productrices d'antibiotiques. Dans ce cas, la préparation selon l'invention exerce une activité beaucoup plus puissante pour empêcher la croissance des bactéries pathogènes ou non pathogènes et il en résulte que l'utilisation de la 15 préparation selon l'invention peut fréquemment améliorer l'état des hémorroïdes ou même les guérir presque complètement, si elles ne sont pas sérieuses.

15 Comme il ressort clairement de l'analyse concernant la phylaxie, parmi les maladies inflammatoires des organismes vivants, ce groupe de maladies est caractéristique dans la forte irritation et la contamination de la partie affectée. Ainsi, la maladie qui affecte si fortement le malade, comme dans le cas des hémorroïdes, peut être relativement rare. Autrement dit, cette maladie sérieuse ne peut être rencontrée 20 que dans les infections des yeux, de la cavité orale, des gencives, de la gorge, de la cavité abdominale ou des organes sexuels ou chez les opérées en gynécologie.

25 Concomitamment, bien que dans la description précédente seules les bactéries pathogènes aient été expliquées comme responsables des hémorroïdes et bien qu'on les ait distinguées des bactéries intestinales, on notera que cette maladie est parfois provoquée par des bactéries pathogènes intestinales.

(7) Déchirure périnéale lors de l'accouchement :  
30 L'administration orale de la préparation selon l'invention ou son application directe sur la partie affectée sont intéressantes pour améliorer les symptômes inflammatoires comprenant le gonflement, l'inflammation ou la douleur dans la zone atteinte.  
35 La demanderesse a effectué les expériences en utilisant des souches de Lactobacillus qui sont résistantes ou non résistantes aux

médicaments ou aux condiments d'usage courant. Pour obtenir un effet suffisant de la préparation selon l'invention, on doit d'abord s'assurer que l'inflammation de l'organisme vivant a disparu complètement. Cependant, comme les maladies inflammatoires chroniques ne peuvent pas être guéries en une courte durée, il est impossible dans l'alimentation actuelle de continuer à vivre sans prendre de condiments jusqu'au rétablissement complet. Pour cette raison, il est donc important dans la fabrication de la préparation pharmaceutique selon l'invention d'utiliser des souches de Lactobacillus qui sont résistantes aux condiments ou aux antibiotiques.

La demanderesse a effectué de nombreuses expériences et une partie seulement de ces expériences est décrite ci-après.

Depuis le développement des agents bactéricides et antibiotiques, y compris le prontosil rouge et les pénicillines, ces produits ont été utilisés de manière intense pour le traitement des maladies bactériennes, parce que, non seulement, elles impliquaient de nouveaux concepts inventifs, mais avaient une activité bactéricide puissante avec moins d'effets désavantageux sur l'organisme. La préparation selon l'invention a une efficacité élevée et une large gamme d'applications qui sont presque comparables à celles des sulfamides, des antibiotiques et des enzymes anti-inflammatoires.

Naturellement, la préparation selon l'invention est caractérisée en ce que, lorsqu'elle est administrée par voie orale, elle peut, dans certains cas, diminuer l'odeur particulière des excréments au moment de leur évacuation. Autrement dit, même dans les intestins recouverts avec plus de  $10^{11}$  cellules/g de microbes formant leur propre masse de spores, la préparation selon l'invention peut proliférer bien et prédomine sur les-dits microbes. Ceci est dû à ce que les souches de Lactobacillus selon l'invention peuvent pousser plus rapidement que presque toutes les bactéries intestinales; elles nécessitent moins de substances nutritives, elles peuvent simultanément produire des antibiotiques; et elles peuvent donc survivre dans la compétition de croissance avec les bactéries intestinales. Les substances fétides contenues dans les excréments comprennent de nombreux types de composés, tels que diverses amines, des acides gras inférieurs, de l'ammoniac et des composés soufrés. Lorsque la quantité de ces substances dépasse une certaine limite, elles deviennent nocives pour l'organisme. L'effet de désodorisation de la préparation selon l'invention vis-à-vis de ces matières indique clairement qu'elle peut digérer ou

dénaturer ces matières en abaissant leur quantité ou en les transformant en d'autres substances. De plus, ces effets de la préparation selon l'invention sont obtenus en présence d'une grande quantité de bactéries intestinales qui produisent les matières fétides, tout en empêchant la croissance de ces dernières. En conséquence, ledit effet est l'un des points les plus importants de l'invention, et cet effet ou aptitude caractéristique s'exerce de manière tout à fait satisfaisante, même dans d'autres parties affectées ou maladies infectieuses. En outre, comme les souches de Lactobacillus selon l'invention (qui utilisent comme matières nutritives les cellules ou exsudats sécrétés dans l'organisme) peuvent pousser très rapidement, leur substitution à d'autres bactéries peut s'effectuer sans interférence de la part de ces dernières.

Certains exemples des traitements médicaux mentionnés ci-dessus indiquent que les souches de Lactobacillus selon l'invention peuvent prédominer sur les bactéries pathogènes dans la compétition de croissance avec lesdites bactéries. En outre, l'action de purification de la préparation de l'invention a déjà été prouvée par les expériences de désodorisation (la désodorisation est une indication de l'action de purification). Donc, les souches de Lactobacillus peuvent proliférer temporairement à profusion, mais leur croissance peut être réduite à mesure que les sources de matières nutritives (c'est-à-dire l'exsudat de la portion inflammatoire) disparaissent.

Pour résumer les effets de la préparation selon l'invention : à la différence des antibiotiques qui servent seulement à tuer les bactéries, la préparation selon l'invention est caractérisée en ce que (a) elle est non pathogène, (b) elle peut produire des antibiotiques et tuer ainsi les bactéries, (c) elle peut survivre dans la compétition de croissance avec les bactéries pathogènes et autres, (d) elle dénature les métabolites (y compris les poisons) des organismes vivants ou les transforme en constituants de ses propres cellules, (e) elle désinfecte la zone atteinte, (f) elle présente des activités anti-inflammatoires et anti-gonflement, et enfin (g) ladite préparation est étrangère à l'organisme et elle est non pathogène, elle est finalement digérée lorsque la maladie inflammatoire disparaît. En conséquence, comme il ressort clairement des discussions ci-dessus concernant les causes des maladies ou leurs données expérimentales, la préparation selon l'invention peut être utilisée de manière intense pour donner de meilleurs effets thérapeutiques, sauf lorsque la structure physique ne permet pas son emploi.

En outre, la demanderesse a constaté que ces effets thérapeutiques de la préparation selon l'invention sont parfois accrus lorsqu'on l'utilise en combinaison avec des enzymes ayant des activités anti-inflammatoires et supprimant ou diminuant le gonflement. Bien qu'il soit impossible d'éliminer les microbes par l'utilisation des enzymes ayant ces activités et bien que les antibiotiques ne puissent que soulager le gonflement provoqué par les maladies inflammatoires ou aient une activité insuffisante sur celui-ci, les maladies peuvent fréquemment être améliorées de manière significative par l'utilisation de la préparation selon l'invention à cause de la substitution bactérienne qui a lieu.

En ce qui concerne le caractère non pathogène des souches utilisées selon l'invention, on sait que, à l'origine, l'histoire de la bactériologie a commencé avec l'étude de Pasteur sur la bactérie de l'acide lactique. Bien que de nombreuses recherches sur le Lactobacillus aient été effectuées depuis 1857, on a dit que les travaux scientifiques n'ont pas prouvé positivement que ce groupe de souches soit pathogène. En outre, non seulement la littérature actuelle montre que le Lactobacillus n'est pas pathogène, mais le Bergey's Manual (1974) indique, en particulier, que les bactéries pathogènes appartenant à ce groupe sont extrêmement rares.

Selon les recherches de la demanderesse, il a été prouvé que le Lactobacillus est presque essentiel à l'organisme, par exemple pour la membrane muqueuse et, en particulier, essentiel au moins à la cavité buccale, à l'intestin et au vagin. Par exemple, il est presque impossible de maintenir les conditions normales du vagin en l'absence de Lactobacillus. Donc, la présence ou non de Lactobacillus est maintenant un point de contrôle important dans un diagnostic sur l'état de santé du vagin. Ainsi, on a souvent reconnu que l'agent pharmaceutique selon l'invention présente un effet distinct par désodorisation du vagin.

Pendant ce temps, bien que les souches utilisées selon l'invention appartiennent apparemment au groupe de Lactobacillus, on ne savait pas jusqu'à présent si les souches de l'invention sont pathogènes ou non, parce qu'elles ont certaines propriétés jusqu'à présent inconnues.

Le problème fondamental est de déterminer d'abord si les nouvelles souches selon l'invention appartiennent ou non au groupe Lactobacillus. Si elles appartiennent sans aucun doute au groupe Lactobacillus, ce fait seul indique avec une très forte probabilité qu'elles ne sont pas pathogènes.

Toutes les propriétés morphologiques des nouvelles souches isolées par la demanderesse, sauf les besoins nutritionnels, sont identiques à celles des souches connues de *Lactobacillus*. Les souches de *Lactobacillus* connues jusqu'à présent peuvent être définies comme des bâtonnets gram positifs, facultativement anaérobies et non formateurs de spores. Leur forme varie selon les souches du bacille sphérique ou courbe au type coryne ou filiforme, mais ils ne forment pas beaucoup de ramifications. Ils sont ordinairement non mobiles, négatifs à la catalase, ne réduisent pas les nitrates, ne décomposent pas la gélatine et ne forment pas d'indole ou de H<sub>2</sub>S. Certaines souches donnent des taches bipolaires. L'aptitude des souches de *Lactobacillus* à décomposer les protéines et la lipase est très faible, le cas échéant. Les souches poussent mieux en conditions aérophobes ou légèrement aérophobes qu'en conditions aérophiles. Elles décomposent fortement le sucre et sont résistantes aux acides. L'acide lactique est produit avec un rendement de plus de 50% par la fermentation du glucose. Selon la classification morphologique connue, les souches selon l'invention ayant ces propriétés doivent être considérées comme appartenant au groupe *Lactobacillus*. En outre, la morphologie des micro-organismes n'a pas fourni un indice pour classer les microbes en fonction de leur différence de besoins nutritionnels. Au moins, à l'heure actuelle, on considère donc que les souches selon l'invention appartiennent au groupe *Lactobacillus*. Concomitamment, en supposant que l'on adopte ultérieurement une méthode de classification différente pour classer ces souches dans un groupe différent, les souches selon l'invention devraient être classées dans un groupe qui est tout à fait semblable au groupe *Lactobacillus*. Le fait que les souches selon l'invention sont classées dans le groupe *Lactobacillus* ou un groupe très semblable est d'une importance spéciale pour la discussion de leur caractère non pathogène.

La raison du choix de *Lactobacillus* dans la recherche de microbes désodorisants pour l'administration orale, malgré le fait que d'autres bactéries, telles que des souches de *Pseudomonas*, pouvaient être plus facilement disponibles, est que l'on a pensé que ce groupe de microbes doit être considéré comme souches intéressantes. En particulier, parmi les bactéries intestinales importantes, on a pensé qu'ils devaient être reconnus comme les plus importants et essentiels à l'intestin. En effet, bien qu'au stade initial des expériences on ait fortement regretté que les micro-organismes désodorisants isolés, comme on le désirait, pouvaient, par administration orale, avoir une influence défavorable sur l'évacuation régulière

et autrement sur la vie quotidienne, c'est justement ce point de vue du caractère non pathogène et de l'utilité des souches qui a conduit à poursuivre diverses expériences.

Tout d'abord, on a effectué des expériences en utilisant divers chiens. Ensuite, au stade final des expériences, on a administré les coagulums de culture lavés (0,1 g/kg de produit humide) presque tous les jours ou parfois à intervalles de 2 ou 3 jours pendant 2 ans. Mais, on n'a pas observé d'effets pathogènes pendant les expériences et les sujets humains soumis à l'essai ont présenté une diminution de la fatigue et une amélioration de leur état de santé comme symptômes subjectifs. En outre, deux chiens qui étaient déjà soignés par les vétérinaires ont récupéré leur santé et continué à vivre sans l'aide des vétérinaires.

En conséquence, les souches selon l'invention, même administrées par voie orale à l'homme, ne présentent pas de toxicité aiguë, ni subaiguë, ni chronique. En outre, lorsque l'on injecte par voie intraperitoneale 1 mg/g de ladite souche en suspension dans trois fois son volume d'une solution de sérum physiologique à cinquante souris, en comparaison avec un groupe témoin, les souris d'essai ne présentent pas de symptômes irréguliers 24, 48 ou 72 h, une semaine, un mois ou trois mois après l'administration. Les faits mentionnés ci-dessus indiquent donc que les souches selon l'invention ne présentent pas de toxicité aiguë ou subaiguë, même par administration de 60 g des coagulums de cellules microbiennes à des humains de 60 kg de poids corporel. La préparation selon l'invention est donc considérée comme sensiblement sans caractère pathogène.

On décrit ci-après plus en détail les propriétés des souches de *Lactobacillus* selon l'invention isolées et cultivées par la demanderesse et leur méthode de préparation.

(a) Résistance à la bile :

Pour que les souches de *Lactobacillus* exercent une activité suffisante dans l'intestin, il est essentiel que ces souches soient résistantes à la bile ou aient une certaine affinité pour celle-ci.

La résistance à la bile de la souche caractéristique 1946/F.R.I. utilisée selon l'invention est représentée dans le tableau I ci-après.

- D'autres souches caractéristiques de *Lactobacillus*, à savoir 2779/F.R.I., 2780/F.R.I., 2781/F.R.I. et 2782/F.R.I., qui ont été utilisées avec succès par la demanderesse et sont utilisables selon l'invention, présentent les mêmes propriétés contre la bile que la souche 1946/F.R.I.
- 5 Autrement dit, elles peuvent proliférer bien dans un milieu contenant 4% en poids d'extraits de bile. Bien entendu, la préparation selon l'invention qui n'est pas résistante à la bile peut, selon les applications, présenter également un effet suffisant.

(b) Besoins nutritionnels :

- 10 A la différence des souches connues de *Lactobacillus* qui ont besoin d'aminoacides, de peptides, d'acides nucléiques, de vitamines, de sels, d'acides gras ou de leurs esters et de sucres pour leur croissance, les souches de *Lactobacillus* selon l'invention ont moins de besoins nutritionnels. Néanmoins, elles présentent une bonne croissance en une courte durée,
- 15 par exemple 2 jours, et forment de l'acide lactique. Le tableau II ci-après indique le degré de croissance dans différents milieux. On utilise comme milieux de base le milieu S-W et le milieu S-W + gélose.

(c) Vitesse de croissance spécifique :

- 20 Comme l'indique le tableau III ci-après, les souches de *Lactobacillus* selon l'invention présentent une vitesse spécifique de croissance étonnamment élevée, même dans des milieux non nutritifs. On indique à titre de comparaison la vitesse de croissance spécifique d'*Escherichia coli*.

Bien que les souches connues de *Lactobacillus* présentent des besoins nutritionnels élevés et une vitesse de croissance plus faible

25 que les bactéries pathogènes, les souches de *Lactobacillus* selon l'invention peuvent prédominer sur les bactéries pathogènes généralement connues dans la compétition de croissance avec celles-ci.

- (d) Les résultats de l'observation microscopique et les caractéristiques morphologiques des souches de *Lactobacillus* selon l'invention sont indiqués dans le tableau IV ci-après. Les tableaux V et VI ci-après indiquent les propriétés biochimiques et la faculté de décomposer les sucres, respectivement.

(e) Production d'antibiotiques :

On sait que certaines souches appartenant au groupe Lactobacillus produisent des antibiotiques; toutes les souches selon l'invention sont productrices d'antibiotiques. Cette production d'antibiotiques par les souches Lactobacillus de l'invention empêche la croissance d'autres bactéries ou la formation de pus, de mucosités, de sérum et d'autres poisons et peut augmenter leurs diverses activités physiologiques.

Le tableau VII ci-après illustre un exemple des effets inhibiteurs contre les bactéries que l'on peut évaluer en plaçant une trace des souches de Lactobacillus selon l'invention au centre d'une boîte de Petri contenant un milieu gélose + sucre + vitamines, en cultivant à 37°C pendant 2 jours, puis en étalant *Staphylococcus aureus* (comme exemple caractéristique de bactéries gram positives) ou *Escherichia coli* (comme exemple caractéristique de bactéries gram négatives) sur le milieu. En réalité, cependant, selon les composants des milieux et les méthodes de culture ou de stockage, il peut parfois arriver que les souches selon l'invention présentent une productivité d'antibiotiques plus forte que celles indiquées dans le tableau VII ci-après ou pas de production d'antibiotiques.

(f) Le tableau VIII ci-après montre que les souches de Lactobacillus utilisées selon l'invention ont une croissance accrue, bien qu'à des degrés variables selon le milieu de base utilisé, par l'addition au milieu de divers ingrédients odorifères des excréments. En outre, on obtient des résultats semblables en ajoutant des substances contenant S, N et C autres que celles indiquées dans ledit tableau.

Ensuite, on indique ci-après les différences bactériologiques fondamentales entre les souches connues de Lactobacillus et celles de l'invention, en utilisant les données représentées dans les tableaux IXa, IXb et IXc ci-après. Le degré de croissance des souches connues de Lactobacillus et des souches de l'invention dans des milieux faiblement, moyennement fortement nutritifs, ainsi que les variations ou le degré de variation de leur croissance en présence d'acide acétique sont représentés dans le tableau IXa ci-après. Ce tableau indique la différence nette entre ces deux groupes. Bien que l'addition d'une quantité appropriée d'acide acétique à un bon milieu nutritif (par exemple, milieu de Briggs qui est caractéristique pour Lactobacillus) est connue comme facilitant la croissance des souches connues de Lactobacillus, ce phénomène ne peut être observé

que dans les bons milieux nutritifs. Autrement dit, comme les souches connues de Lactobacillus ne peuvent pas pousser dans un milieu faiblement nutritif, l'addition de l'acide acétique ne stimule jamais leur croissance. Au contraire, les souches de Lactobacillus selon l'invention ont une croissance fortement accrue par l'addition d'une quantité convenable d'acide acétique aux milieux faiblement ou relativement faiblement nutritifs représentés dans le tableau IXa ci-après; mais, dans les milieux nutritifs bons ou relativement bons, le degré de stimulation de la croissance est léger ou n'est même jamais observé.

En outre, comme on le voit dans le tableau IXb ci-après, lorsque l'on cultive les souches connues de Lactobacillus et celles de l'invention dans les milieux faiblement, moyennement ou fortement nutritifs contenant  $\text{Na}_2\text{S}, 9\text{H}_2\text{O}$  ou  $\text{NH}_3$ , la croissance des souches de l'invention dans les milieux faiblement ou moyennement nutritifs est stimulée par l'addition de 0,1 ou 1 g de  $\text{Na}_2\text{S}, 9\text{H}_2\text{O}$ , tandis que cette addition aux milieux faiblement, moyennement ou fortement nutritifs ne stimule pas la croissance des souches connues de Lactobacillus.

En outre, la croissance des souches de Lactobacillus selon l'invention dans les milieux faiblement ou moyennement nutritifs est stimulée par l'addition de  $\text{NH}_3$ , tandis que la croissance des souches connues de Lactobacillus est réduite par l'addition d'une quantité même faible de  $\text{Na}_2\text{S}, 9\text{H}_2\text{O}$  ou d'ammoniac.

Il est donc clair que, à la différence des souches connues, les souches de Lactobacillus selon l'invention présentent un comportement nouveau et spécial vis-à-vis de  $\text{Na}_2\text{S}$  et de l'ammoniac dans certaines conditions nutritionnelles.

En outre, la croissance des souches de Lactobacillus selon l'invention dans les milieux faiblement, moyennement ou fortement nutritifs est stimulée par l'addition d'un mélange de  $\text{Na}_2\text{S}, 9\text{H}_2\text{O}$ , ammoniac et acide acétique, tandis que l'addition de ce mélange auxdits milieux ne stimule jamais la croissance des souches connues de Lactobacillus, voir tableau IXc ci-après.

Concomitamment, on notera dans les tableaux IXa à IXc ci-après que les souches de Lactobacillus selon l'invention dont la croissance est stimulée par la présence de substances contenant S, N et C comprennent un groupe de souches qui peuvent pousser en présence desdites substances.

Les milieux faiblement, moyennement et fortement nutritifs représentés dans les tableaux IXa, IXb et IXc ci-après sont définis chacun comme les milieux obtenus par classement des besoins nutritionnels des souches connues de *Lactobacillus* ou des souches de l'invention en trois groupes et des milieux moyennement nutritifs en trois autres groupes, en tenant compte de leurs propriétés biologiques. Plus particulièrement, le milieu moyennement nutritif désigne un milieu contenant S-W + vitamines ou S-W + hydrolysat acide de caséine (sans vitamine) au plus. Bien entendu, on peut utiliser dans le milieu d'autres vitamines ou aminoacides spécifiques au lieu desdites vitamines ou desdits hydrolysats acides de caséine; ou bien, on peut utiliser un milieu ne contenant pas ces deux ingrédients. Le milieu faiblement nutritif doit être interprété comme concernant tous les milieux qui ne contiennent pas plus de composés nutritifs que ceux décrits ci-dessus.

D'autre part, le milieu moyennement nutritif faible indiqué dans les tableaux IXa, IXb et IXc ci-après désigne le milieu S-W + vitamines + aminoacides soufrés; le milieu moyennement nutritif moyen désigne le milieu S-W + vitamines + hydrolysat acide de caséine + peptone + sucres, ou bien un milieu ayant presque la même valeur nutritive. Le milieu moyennement nutritif fort désigne ceux qui consistent en les mêmes ingrédients que ceux du milieu fortement nutritif, mais ne contenant que 1/5 à 1/3 des composés nutritifs de ce dernier. A ce sujet, cependant, on peut aussi utiliser comme milieu moyennement nutritif un milieu dans lequel certaines autres vitamines et certains aminoacides sont ajoutés au milieu S-W au lieu des vitamines et de l'hydrolysat acide de caséine utilisés ci-dessus.

En outre, le milieu fortement nutritif indiqué ci-dessus désigne n'importe quels milieux particulièrement appropriés pour la prolifération des souches de *Lactobacillus* connues, comme déjà indiqué dans divers travaux scientifiques. Ces milieux comprennent non seulement le milieu MRS, mais aussi ceux qui contiennent des aminoacides, des peptides, des acides nucléiques, des vitamines, des matières minérales, des acides gras ou leurs esters et/ou des sucres dans de bonnes proportions appropriées pour la croissance des souches connues de *Lactobacillus*.

Il est entendu de toute manière que les souches de *Lactobacillus* selon l'invention ne sont pas limitées aux cinq souches mentionnées ci-dessus, mais comprennent toutes souches qui ont les mêmes propriétés morphologiques et biologiques définies ci-dessus, bien que leurs effets thérapeutiques puissent varier selon les souches à utiliser. De plus,

bien que la production d'antibiotiques par les souches de l'invention soit importante pour aider indirectement leurs effets thérapeutiques, la demanderesse a constaté que les souches de l'invention ne produisant pas d'antibiotiques exerçant également leurs effets de manière tout à fait satisfaisante.

(g) On décrit ci-dessous à titre d'illustration quelques exemples de fabrication de la préparation selon l'invention.

1) On inocule une souche de Lactobacillus de l'invention dans un milieu (pH 7,4) contenant les ingrédients suivants :

10 Lait écrémé  
Extrait de levure  
 $\text{CaCO}_3$

On cultive le milieu à 37°C pendant 3 jours. Ensuite, on centrifuge le milieu en refroidissant et on sèche sous vide les cellules microbiennes recueillies  
15 et on obtient une préparation pharmaceutique de *Lactobacillus*.

2) On inocule une souche de *Lactobacillus* de l'invention dans un milieu (pH 7,4) contenant les ingrédients suivants :

	Milieu S-W
20	$\text{Na}_2\text{S}, 9\text{H}_2\text{O}$
	Acide acétique
	Acide propionique
	Acide butyrique
	Extrait de levure
	Vitamines
25	Aminoacides

Composition du milieu S-W :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   
et glucose.

On cultive le milieu à 37°C pendant 3 jours. On prépare ensuite une préparation de *Lactobacillus* en séchant les cellules microbiennes, tout en évitant de les abîmer, jusqu'à ce que leur teneur en eau soit de 2%.

La préparation de Lactobacillus selon l'invention comprend une seule ou plusieurs souches de Lactobacillus qui peuvent pousser ou dont la croissance est stimulée par addition d'une, deux ou trois substances

choisies parmi les substances soufrées, azotées et carbonées, ou leurs combinaisons à un milieu qui, dans la culture des souches connues de *Lactobacillus*, ne permet pas la croissance en présence de substances carbonées.

5 Les exemples suivants illustrent l'invention sans toutefois en limiter la portée.

EXEMPLE 1

On applique la préparation de l'invention à trois patients souffrant de sinusite aiguë, cinq patients souffrant de sinusite chronique et deux patients atteints de sinusite post-opératoire. On dissout 10 20 g de la préparation (teneur en eau 2%) dans 400 ml d'eau et on lave le sinus nasal des patients avec ladite solution deux fois par jour pendant 21 jours consécutifs. En outre, pour les deux patients présentant un fort écoulement de mucosité nasale, on utilise la préparation en combinaison 15 avec la tétracycline. En examinant (1) les symptômes subjectifs (rhinosténose, écoulement post-nasal, écoulement nasal, diminution du sens de l'odorat, mal de tête), (2) l'observation pathologique du sinus nasal et de la membrane muqueuse nasale (inflammation de la membrane muqueuse, gonflement, quantité de l'écoulement nasal, nature des fluides nasaux) et 20 (3) par l'examen direct et l'examen aux rayons X, on évalue les effets thérapeutiques de la préparation en lui attribuant 4 points (remarquablement efficace), 2 points (efficace), 1 point (légèrement efficace) et 0 point (inefficace). Le tableau X ci-après représente les effets de la préparation une semaine et trois semaines après le début du traitement, 25 respectivement.

Comme on le voit dans le tableau X ci-après, lorsque l'on utilise la préparation de l'invention pour les dix patients, cette préparation se révèle remarquablement efficace pour le traitement de la sinusite chez l'un des patients, efficace chez six patients et légèrement efficace chez deux patients. En outre, dans cet exemple, on n'observe pas de cas où la préparation soit inefficace selon les trois critères d'examen.

EXEMPLE 2

Les patients traités sont les suivants : 10 patients atteints d'hémorroïdes avec douleur, gonflement ou saignement (âgés de 35 16 à 60 ans).

Méthodes d'application : (A) cellules séchées (teneur en eau 2%) d'une souche de Lactobacillus résistante à la tétracycline. La préparation est administrée par voie orale cinq fois par jour (dose : 3 g chaque fois).

5

- (B) On mélange la même préparation avec la moitié en volume d'une pommade et on l'applique sur la partie atteinte cinq fois par jour.
- (C) On applique sur la partie atteinte une pommade à la tétracycline avant l'application de la préparation selon l'invention.

10

On effectue les essais d'abord par les trois méthodes suivantes : (C) + (A), (C) + (B) et (C) + (B).

Evaluation des effets : d'après les symptômes subjectifs et observations secondaires, tels que douleur subjective, saignement, gonflement, degré de 15 nodule hémorroïdaire et sensation d'inconfort de l'anus, on attribue aux effets thérapeutiques les notes +4 (remarquablement efficace), +2 (efficace), +1 (légèrement efficace), 0 (inefficace) et -2 (aggravation).

Les effets thérapeutiques sont observés le 7<sup>e</sup>, le 14<sup>e</sup> et le 21<sup>e</sup> jours. Le tableau XI ci-après montre les résultats obtenus selon 20 (A) + (B) + (C), évalués le 7<sup>e</sup> et le 21<sup>e</sup> jours après le début du traitement.

Les résultats se caractérisent en ce que l'on n'observe pas de cas "inefficace" ou "aggravation".

La caractéristique de ces résultats est qu'il n'y a pas de cas qui soit noté 4 ou 0 dans les cinq critères d'examen.

25

### EXEMPLE 3

Le tableau XII ci-après montre les résultats des essais cliniques effectués dans le domaine dentaire avec la préparation selon l'invention. Les essais sont effectués de la manière suivante :

- (i) préparation (cellules séchées jusqu'à 2% d'humidité)  
30 tassée directement dans la partie atteinte,
- (ii) dissolution de la préparation selon l'invention dans une solution de serum physiologique puis injection de ladite solution avec un injecteur,
- (iii) gargarisme avec une solution aqueuse de la 35 préparation selon l'invention, ou bien

(iv) application de la pommade de la préparation de l'invention sur la partie atteinte.

Les résultats sont notés par +++ (remarquablement efficace), ++ (assez efficace), + (efficace) et - (inefficace).

5 Comme il ressort clairement du tableau XII ci-après, des effets thérapeutiques élevés sont observés chez presque tous les patients.

EXAMPLE 4

On utilise la préparation selon l'invention pour le traitement de la déchirure périnéale et du gonflement ou de la douleur après une intervention péritonéale. Dans les essais, on applique la pommade de la préparation sur la zone atteinte plusieurs fois par jour. En outre, dans le cas d'une déchirure profonde, on utilise la préparation en combinaison avec des antibiotiques et de la protéase. Les résultats sont montrés dans le tableau XIII ci-après.

15 Le traitement est efficace chez toutes les patientes.

La convalescence est satisfaisante.

Malgré la découverte d'antibiotiques puissantes, les maladies ci-dessus mentionnées appartiennent encore à un groupe de maladies qui sont connues comme difficiles à guérir dans l'état actuel de la science médicale. En conséquence, on peut conclure que la préparation selon l'invention s'applique presque également aux autres maladies infectieuses obéissant à peu près aux mêmes mécanismes que celles mentionnées ci-dessus.

EXAMPLE 5

Après l'opération de l'appendicite, on utilise la préparation selon l'invention pour éliminer les bactéries pathogènes, la fibrine produite dans la zone atteinte, les tissus morts, les fluides nasaux, etc., ou bien pour le traitement de la gastrite ou de l'entérite induites par des bactéries pathogènes. On administre la préparation par voie orale et, dans presque tous les cas, en combinaison avec des antibiotiques. Par rapport aux patients non traités, les résultats sont notés par +++ (remarquablement efficace), ++ (assez efficace), + (efficace) et - (inefficace). Concomitamment, la souche de Lactobacillus utilisée dans ces expériences est une souche résistante aux antibiotiques utilisés et, dans le cas des patients adultes, la préparation (bouillon de culture frais) est administrée huit fois par jour à la dose de 3 ml/kg de poids corporel chaque fois.

Le tableau XIV ci-après montre clairement que tous les patients ont une convalescence satisfaisante et que la préparation selon l'invention a un effet thérapeutique élevé. En particulier, bien qu'il soit parfois arrivé dans le passé des cas d'appendicite où la blessure 5 ne pouvait pas cicatriser bien ou bien l'opération chirurgicale devait être répétée à cause de la distribution de bactéries autour de la partie atteinte ou des effets inhibiteurs insuffisants des antibiotiques contre les bactéries, ces accidents n'ont pas été observés pendant les expériences représentées dans les tableaux ci-après ou bien dans diverses autres expériences.

TABLEAU I

## Degré de croissance

Milieu	Extraits de bille				4%
	0%	1%	2%	3%	
S-W + hydrolysat acide de cassine	+	++	++	++	+
S-W + Na <sub>2</sub> S	+	++	++	++	+
Bouillon d'extract de viande	+	++	++	++	+

Degré de croissance + bonne croissance

++ croissance meilleure

++ croissance intermédiaire entre + et ++

Composition du milieu S-W : KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,7 g, NaCl 1 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,03 g et glucose 5 g.

2400901

23

TABLEAU II

Composés ajoutés au milieu de base	Milieu de base		Souches, n° F.R.I.			
	(A)	(B)	1946	2779	2780	2781
Pas d'addition	-	-	-	-	-	-
Aminoacides soufrés	(A)	+	-	-	+	-
	(B)	++	-	+	+	-
Aminoacides cycliques	(A)	-	-	-	-	-
	(B)	-	-	-	-	-
Aminoacides ramifiés	(A)	-	-	-	-	-
	(B)	-	-	-	-	-
Cystéine	(A)	+	-	-	-	-
	(B)	++	-	-	-	-
Cystine	(A)	+	-	-	+	-
	(B)	++	-	-	+	-
Méthionine	(A)	+	-	-	-	-
	(B)	+	-	-	-	-
Hydrolysat acide de caséine	(A)	+	-	-	-	-
	(B)	++	+	+	+	+
Hydrolysat acide de caséine + vitamines	(A)	+	+	+	+	+
	(B)	++	+	+	+	+
Hydrolysat acide de caséine + extrait de levure	(A)	++	+	+	+	+
	(B)	++	+	+	+	+
Extrait de levure	(A)	+	+	+	+	+
	(B)	++	+	+	+	+

(A) : milieu S-W, (B) : milieu S-W + gélose, + : croissance normale, ++ : croissance bonne, +++ : croissance très bonne, - : croissance mauvaise, - : pas de croissance.

T A B L E A U III

Taux de croissance

Souches, n° F.R.I.	Ingrédients ajoutés au milieu de base (S-N)	Aminoacides contenant S, N, C et S	/u	/u dans le cas de <i>E. coli</i>
1946	aminoacides soufrés	oui	0,53	0,4
2779	vitamines + amino- acides soufrés	oui	0,46	0,43
2780	vitamines	oui	0,46	0,38
2781	S, N, C	oui	0,53	0,35
2782	vitamines + amino- acides soufrés	oui	0,46	0,43

S = composés soufrés :  $\text{Na}_2\text{S}$  ou  $\text{H}_2\text{S}$

N = composés azotés : ammoniac, indole ou scatole

C = composés carbonés : acides gras inférieurs (acide acétique, acide butyrique, etc.)

oui = essentiels à la croissance

TABLEAU IV

## Observation microscopique et caractères morphologiques

Souches, n° F.R.I.	2779	2780	2781	2782	1946
Gram	+	+	+	+	+
Forme	bâtonnets courts, extrémités arrondies, pas de flagelles et pas de spores	coco-bacilles, pas de flagelles et pas de spores	coco-bacilles, pas de flagelles et pas de spores	bâtonnets courts, extrémités arrondies, pas de flagelles et pas de spores	bâtonnets courts, extrémités arrondies, pas de flagelles et pas de spores
Capsule	non	non	non	non	non
Mobilité	non	non	non	non	non
O <sub>2</sub>	anaérobie	anaérobie	anaérobie	anaérobie	anaérobie
Milieu de gélose colonies moyennes + sucre + vitamines	colonies moyennes rondes	colonies moyennes rondes	colonies moyennes rondes	colonies moyennes rondes	colonies moyennes rondes
Projection	semisphérique	semisphérique	mince	épaisse	épaisse
Surface	lisse, humide	lisse, humide	lisse, humide	lisse, humide	lisse, humide
Circonférence	plane	plane	plane	plane	plane
Couleur	blanc laiteux, non transparent, muqueux	blanc laiteux, non transparent, muqueux	blanc, non transparent, muqueux	blanc laiteux, non transparent, muqueux	blanc laiteux, non transparent, muqueux

T A B L E A U V

Propriétés biochimiques générales

Souches, n° R.R.I.	2779	2780	2781	2782	1946
Production d'ammoniac	-	-	-	-	-
Production de H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-
Production de catalase	-	-	-	-	-
Production de pigment	-	-	-	-	-
Liquéfaction de la gélatine	-	-	-	-	-
Utilisation de l'acide citrique	-	-	-	-	-
Décomposition de l'urée	-	-	-	-	-
Réaction M.R.	+	+	+	+	+
Réaction V.P.	-	-	-	-	-
Réduction des nitrates	-	-	-	-	-

TABLEAU VI

Souches, n° F.R.I.	2779	2780	2781	2782	1946
Glucose	+	+	-	-	+
Galactose	+	+	-	-	-
Fructose	+	+	-	-	-
Salicine	+	+	-	-	-
Arabinose	+	+	-	-	-
Xylose	+	+	-	-	-
Saccharose	+	+	-	-	-
Inositol	+	+	-	-	-
Dextrine	+	+	-	-	-
Mannitol	+	+	-	-	-
Mélibiose	+	+	-	-	-
Ribose	+	+	-	-	-
Lactose	+	+	-	-	-
Raffinose	+	+	-	-	-
Amidon	+	+	-	-	-
Inuline	+	+	-	-	-
Sorbitol	+	+	-	-	-
Maltose	+	+	-	-	-
Mélezitose	+	+	-	-	-
Mannose	+	+	-	-	-

2400901

28

TABLEAU VIIActivité bactéricide

Souches, n° F.R.I.	Diamètre d'inhibition (culture préliminaire pendant 48 h)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1946	20 mm	24 mm
2772	15 mm	18 mm
2780	15 mm	20 mm
2781	12 mm	15 mm
2882	18 mm	22 mm

2400901

29

TABLEAU VIII

Ingrédients ajoutés au milieu de base	Milieu de base				Souches, n° F.R.I.			
	1946	2779	2780	2781	2782			
Pas d'addition	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	-	-	-	-	-	-	-
	C	+	+	+	+	+	+	+
	D	++	++	++	++	++	++	++
Acide acétique	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Ammoniac	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Acide propionique	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Na <sub>2</sub> S, 9H <sub>2</sub> O	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	++	++	++	++	++	++	++
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Acide butyrique	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Scatole	A	-	-	-	-	-	-	-
	B	+	+	+	+	+	+	+
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++
Jus d'excrément	A	+	+	+	+	+	+	+
	B	++	++	++	++	++	++	++
	C	++	++	++	++	++	++	++
	D	++	++	++	++	++	++	++

A : milieu S-W, B : milieu S-W + gélose, C : peptone 8 g + glucose 2 g, D : peptone 10 g + extrait de viande 5 g + NaCl 5 g + glucose 1 g.

TABLEAU IXa

Milieu de base	Degré de stimulation de Lactobacillus		Quantité d'acide acétique, g/l ajoutée	Degré de stimulation de Lactobacillus	
	Souches connues	Souches de l'invention		Souches connues	Souches de l'invention
faiblement nutritif	-	+	1 2 5	-	+
faible	-	+	1 2 5	-	+
moyen	- ou +	+	1 2 5	~ ~ ~	~ ~ ~
fort		++	1 2 5	-	-
fortement nutritif		++	1 2 5	-	-

TABLEAU IXb

Milieu de base	Quantité de Na <sub>2</sub> S, 9H <sub>2</sub> O ajoutée, g/l	Degré de stimulation de Lactobacillus en présence de Na <sub>2</sub> S, 9H <sub>2</sub> O		Quantité d'ammoniac ajoutée	Degré de stimulation de Lactobacillus en présence de NH <sub>3</sub>	
		Souches connues	Souches de l'invention		Souches connues	Souches de l'invention
faiblement nutritif	0,1 1	-	-	0,1 1	-	-
	0,1 2	-	-	0,1 2	-	-
	0,1 1	-	-	0,1 1	-	-
	0,1 2	-	-	0,1 2	-	-
moyen	0,1 1	-*	-*	0,1 1	-*	-*
	0,1 2	-*	-*	0,1 2	-*	-*
	0,1 1	-	-	0,1 1	-	-
	0,1 2	-	-	0,1 2	-	-
fortement nutritif	0,1 1	-	-	0,1 1	-	-
	0,1 2	-	-	0,1 2	-	-
	0,1 1	-	-	0,1 1	-	-
	0,1 2	-	-	0,1 2	-	-

\* diminution de la croissance

TABLEAU IXc

Milieu de base	Quantités ajoutées, g/l			Stimulation de Lactobacillus en présence de substances contenant S, N, C		
	Na <sub>2</sub> S, 9H <sub>2</sub> O	NH <sub>3</sub>	Acide acétique	Souches connues	Souches de l'invention	
faiblement nutritif	0,1 1 2	+ + +	0,1 1 2	+ + +	- -	-
faible	0,1 1 2	+ + +	0,1 1 2	+ + +	- -	-
moyennement nutritif	0,1 1 2	+ + +	0,1 1 2	+ + +	- -	-
fort	0,1 1 2	+ + +	0,1 1 2	+ + +	- -	-
fortement nutritif	0,1 1 2	+ + +	0,1 1 2	+ + +	- -	-

TABLEAU X

N°	Institut	Age	Sexe	Nom de la maladie	Medica-ment utile conjointement	Symp-tomes sub-jec-tifs	Obser-vat-ion patho-logicque	Rayons X	Moyenne	1 semaine après le début du traitement			3 semaines après le début du traitement		
										1	2	3	4	2	2,7
1	M.O.	10	♂	sinusite aigüe	aucun	"	"	2	1	1	1,7	4	4	2	3,3
2	T.M.	25	♀	"	"	"	"	2	1	1	1	2	2	2	2
3	K.H.	44	♂	sinusite chronique	"	"	"	1	1	1	1	2	2	2	2
4	K.A.	20	♂	"	"	"	"	2	2	2	2	4	2	2	2,7
5	N.N.	36	♀	"	antibio-tique	2	1	1	1	1	1,3	2	2	1	1,7
6	Y.E.	62	♂	"	aucun	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
7	R.Y.	51	♂	"	"	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
8	Y.M.	18	♀	"	"	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2,7
9	T.T.	26	♂	sinusite post-opéra-toire	"	1	2	1	1,3	2	1	2	1	2	2
10	S.O.	42	♂	"	aucun	2	1	1,7	4	2	2	2	2	2	2,7

T A B L E A U XI

TABLEAU XII

N°	Nom du patient	Sexe	Age	Position et symptôme	Méthode opératoire	Mode d'administration	Effets
1	K.S.	♂	37	abcès gingival	extraction de la dent	(1)	++
2	T.A.	♂	25	"	néant	(ii)	+
3	H.O.	♀	46	abcès alvéolaire	néant	(iv)	+++
4	E.M.	♀	22	"	néant	(iv)	++
5	S.I.	♂	19	péiodontite	extraction de la dent	(1)	++
6	T.H.	♀	40	"	"	(ii)	+
7	T.M.	♂	57	inflammation d'une dent de sagesse	"	(iii)	++
8	S.N.	♂	60	"	néant	(iv)	+++
9	M.N.	♂	21	abcès gingival	néant	(iii)	++
10	S.T.	♂	34	"	néant	(ii)	++
11	M.K.	♀	30	"	extraction de la dent	(i)	+
12	M.M.	♀	27	pulpite	"	(i)	+

2400901

36

TABLEAU XIII

N°	Nom	Age	Accouchement	Symptômes	Degré de gonflement	Durée de l'our	Suture	Dose (g/j)	Fréquence par jour	Observations
1.	W.M.	26	premier	déchirure péritoneenne	++		péritoine et vagin	3	5	2 jours plus tard : gonflement et douleur soulagés; bonne suture. "
2.	K.K.	24	"	"	+	++	"	3	3	2 jours plus tard : gonflement allégé.
3.	M.A.	30	"	"	++	++	"	3	4	4 jours plus tard : douleur soulagée; bonne suture. "
4.	J.S.	21	"	"	++	++	"	3	5	
5.	M.M.	29	"	incision du péritoine	++	++	"	3	4	(anti-biotique et protéase)

T A B L E A U XIV

N°	Sexe	Age	Opération	Remarques	Etat après l'opération	Effets
1	♂	38	appendicectomie		bon	++
2	♂	57	"		bon	+
3	♀	40	"		bon	+
4	♀	29	"		bon	++
5	♂	35	entérite	vibrio	bon	++
6	♀	32	"	"	bon	+
7	♂	18	"	Salmonella	bon	+
8	♂	24	"	"	bon	+++

## RE VEND ICA T I O N S

1. Préparation pharmaceutique de *Lactobacillus*, utile notamment pour le traitement des infections et des maladies infectieuses, caractérisée en ce qu'elle comprend une ou plusieurs souches de *Lactobacillus* dont la croissance est possible ou activée par addition d'une, deux ou trois substances parmi les substances contenant du soufre, de l'azote et de l'oxygène ou leurs mélanges, à un milieu qui, dans la culture de souches connues de *Lactobacillus*, ne permet pas d'activer leur croissance, même en présence des substances carbonées suivantes :
- (a) substances soufrées : composés soufrés odorants
- 10 comprenant  $\text{Na}_2\text{S}$  et  $\text{H}_2\text{S}$ ,
- (b) substances azotées : composés azotés odorants comprenant l'ammoniac, l'indole et le scatole,
- (c) substances carbonées : acides gras inférieurs.
2. Préparation pharmaceutique de *Lactobacillus* selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'on utilise une souche de *Lactobacillus* résistante à la bile.
3. Préparation pharmaceutique de *Lactobacillus* selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'on utilise une souche de *Lactobacillus* productrice d'antibiotiques.
- 20 4. Préparation pharmaceutique de *Lactobacillus* selon la revendication 1, 2 ou 3, caractérisée en ce qu'on utilise une souche de *Lactobacillus* résistante à divers agents bactéricides.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**